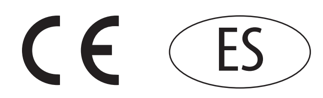
Quantikine® IVD® ELISA

Inmunoensayo Epo Humano
Manual de Instrucciones suplementario

Referencia DEP00

Este manual de instrucciones incluye el protocolo del ensayo y debe leerse en su totalidad antes de comenzar con el ensayo. Para las características del ensayo y referencias, así como para el protocolo en Inglés consulte a manual de instrucciones principal.



IVD **PARA USO EN DIAGNOSTICO IN VITRO**

FABRICADO Y DISTRIBUIDO POR:

USA & Canada | R&D Systems, Inc.
614 McKinley Place NE, Minneapolis, MN 55413, USA
TEL: (612) 379-2956 FAX: (612) 656-4400
E-MAIL: info@RnDSystems.com

EC REP **DISTRIBUIDO POR:**

UK & Europe | R&D Systems Europe, Ltd.
19 Barton Lane, Abingdon Science Park, Abingdon OX14 3NB, UK
TEL: +44 (0)1235 529449 FAX: +44 (0)1235 533420
E-MAIL: info@RnDSystems.co.uk

INDICE

CONTENIDO PÁGINA

APLICACIONES

Enzimoinmunoensayo (ELISA) para la determinación cuantitativa de la concentración de eritropoyetina (Epo) en suero y plasma humano como una ayuda en el diagnóstico de la anemia y de la policitemia.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Quantikine IVD Epo ELISA se basa en un ensayo de doble anticuerpo de tipo sandwich. Los pocillos de la microplaca, recubiertos con un anticuerpo monoclonal (murino) específico para Epo se incuban con la muestra o con el estándar. La eritropoyetina se une al anticuerpo inmovilizado en la placa. Tras eliminar el exceso de muestra o de estándar, los pocillos se incuban con un anticuerpo policlonal (conejo) anti Epo conjugado con peroxidasa de rábano. Durante la segunda incubación, el anticuerpo conjugado con la enzima se une a la Epo inmovilizada. El exceso de conjugado se elimina tras el lavado. Se añade el cromógeno a los pocillos, el cual se oxida tras la reacción enzimática para formar un complejo azulado. La reacción se para con el añadido del ácido, el cual produce un cambio en el color de azul a amarillo. La cantidad de color generada es directamente proporcional a la cantidad de conjugado unido al complejo anticuerpo Epo, el cual a su vez, es directamente proporcional a la cantidad de Epo en la muestra o en el estándar. Se mide la absorbancia de este complejo y se realiza una curva estándar representando las concentraciones de los estándares de Epo frente a los valores de las absorbancias. La concentración de Epo de una muestra desconocida se determina comparando los valores de la densidad óptica de la muestra a partir de la curva éstandar. Los estándares utilizados en este ensayo son Epo humano recombinante calibrados según la Second International Reference Preparation (67/343), una forma de eritropoyetina humano derivada de la orina.

REACTIVOS INCLUIDOS

SORB	**Microplaca de Eritropoyetina** (Part 890126) - Microplaca de poliestireno de 96 pocillos (12 tiras de 8 pocillos) recubierta con un anticuerpo monoclonal murino frente a Epo humano recombinante.
CONJ	**Conjugado Eritropoyetina** (Part 890127) - 21,5 mL de un anticuerpo policlonal de conejo frente a Epo humano recombinante, conjugado con peroxidasa con conservante.
CAL 0	**Estándar Eritropoyetina 0.0 mIU/mL** (part 890128) - 2,1 mL de buffer proteico con conservante.
CAL 2.5	**Estándar Eritropoyetina 2.5 mIU/mL** (part 890129) - 2,1 mL de Epo humano recombinante en buffer proteico con conservante.
CAL 5	**Estándar Eritropoyetina 5 mIU/mL** (part 890130) - 2,1 mL de Epo humano recombinante en buffer proteico con conservante.
CAL 20	**Estándar Eritropoyetina 20 mIU/mL** (part 890131) - 2,1 mL de Epo humano recombinante en buffer proteico con conservante.
CAL 50	**Estándar Eritropoyetina 50 mIU/mL** (part 890132) - 2,1 mL de Epo humano recombinante en buffer proteico con conservante.
CAL 100	**Estándar Eritropoyetina 100 mIU/mL** (part 890133) - 2,1 mL de Epo humano recombinante en buffer proteico con conservante.
CAL 200	**Estándar Eritropoyetina 200 mIU/mL** (part 890134) - 2,1 mL de Epo humano recombinante en buffer proteico con conservante.
DIL AS	**Diluyente para el Ensayo de Eritropoyetina** (part 895057) - 11 mL de buffer proteico con conservante. Contiene azida sódica.
DIL SPE	**Diluyente de la Muestra** (part 895058) - 26 mL de un buffer estabilizador de proteínas con conservante.
BUF WASH 25X	**Solución de Lavado Concentrada de Eritropoyetina** (Part 895059) - 100 mL de un concentrado 25X con conservante
SUBS A	**Reactivo de Color A** (Part 895549) - 12 mL de Reactivo de Color A (0,01 N de peróxido de hidrógeno amortiguador).
SUBS B	**Reactivo de Color B** (Part 895550) - 12 mL de Reactivo de Color B (0,35 g/L tetrametilbenzidina).
SOLN STOP	**Solución de Parada** (Part 895060) - 11 mL de ácido sulfúrico 2N. Precaución: Material cáustico. Cubrirse los ojos, las manos y la cara y utilizar ropa de protección.
	Cubre-placas - 4 tiras adhesivas.

ALMACENAMIENTO

Kit sin abrir	Almacenar de 2-8° C. No utilizar después de la fecha de caducidad.		2°C–8°C
Abierto/ Reactivos Diluidos	Solución de Lavado diluida	Almacenar a temperatura ambiente (20-25° C) hasta la fecha de caducidad del kit.	20°C–25°C
	Solución de Parada	Almacenar de 2-8° C hasta la fecha de caducidad del kit.	2°C–8°C
	Diluyente de la Muestra		
	Diluyente del Ensayo		
	Conjugado		
	Reactivo de Color A sin mezclar		
	Reactivo de Color B sin mezclar		
	Estándares (0,0-200 mIU/mL)		
	Pocillos de la Microplaca	Devolver los pocillos sin usar a la bolsa de aluminio con desecante, cerrar completamente. Almacenar de 2-8° C hasta la fecha de caducidad del kit.	

PELIGROS/PRECAUCIONES

Para uso en el Diagnóstico In Vitro

- No utilizar los reactivos del kit después de la fecha de caducidad.
- Para optimizar los resultados, cada laboratorio debería validar un método de ensayo específico (de mesa o con agitación) y realizar todos los ensayos con el mismo método.
- Con objeto de minimizar las variaciones intra-ensayo, se recomienda que el pipeteo de los reactivos se realice en no más de 15 minutos.
- No sustituir los reactivos del kit por otros de diferentes lotes o procedencias.
- No exponer el kit a fuertes de luz durante el almacenamiento o incubación.
- Evitar el contacto de los reactivos del kit con agentes oxidantes y metales.
- La exposición a azida sódica inactivará el conjugado.
- No pipetear con la boca.
- No fumar o comer en las zonas donde se manipulan los reactivos del kit o las muestras.
- Evitar el contacto de los reactivos del kit y de las muestras con la piel y con las superficies mucosas.
- Si alguna de las reactivos del kit, entra en contacto con los ojos o con la piel, enjuagar con abundante cantidad de agua y solicitar atención médica.
- Usar todos los sueros y materiales en contacto con sueros de acuerdo con las recomendaciones CLSI para la prevención de la transmisión de patógenos sanguíneos durante los protocolos del laboratorio.
- La utilización de otros tiempos de incubación y temperaturas diferentes a los indicados pueden conducir a resultados erróneos.
- La contaminación de los reactivos del kit puede conducir a resultados erróneos.
- En la medida que sea posible, utilizar pipetas, puntas y contenedores para la preparación y almacenamiento de los reactivos, de plástico desechable. Los recipientes de cristal que se utilizan, deben enjuagarse completamente con ácido sulfúrico 1N o ácido hidroclórico 1N, continuado de al menos tres lavados con agua desionizada. No deberían permanecer residuos de ácido o detergente en los recipientes de cristal.
- Utilizar tubos de polipropileno o de polietileno de alta densidad (HDPE) para la dilución de las muestras. **NO UTILIZAR TUBOS DE CRISTAL.**
- Algunos de los componentes del kit contienen azida sódica la cual puede reaccionar con las tuberías de cobre o de plomo formando compuestos de azida explosivos. Aclarar con abundante cantidad de agua durante su eliminación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO

Las soluciones de substrato deben ser incoloras tanto aisladas como en combinación. Una precipitación en las soluciones de los reactivos se considera como un indicio de inestabilidad o deterioro. Si se observa cualquiera de estos indicios de inestabilidad o deterioro, o si el coeficiente de correlación de la curva estándar es inferior a 0,95, mantener el/los reactivos dudosos a 2-8° C y contactar con R&D Systems Europe en el número +44 (0)1235 529449.

OTROS MATERIALES REQUERIDOS

- Pipetas y puntas
- Agitador de microplacas orbital horizontal (0,12" orbita) que sea capaz de mantener una velocidad de 500 ± 50 rpm (necesaria para el protocolo con agitación).
- Probetas graduadas de 100 mL y de 4 litros.
- Frasco lavador, dispensador manual, o lavador automático de microplacas.
- Papel absorbente o toallitas de papel para el secado de los pocillos.
- Lector de microplacas dicromático, capaz de realizar una medida de la absorbancia a 450 nm, y a 600 nm como medida de referencia.
- Gradillas para los reactivos del inmunoensayo.
- Agua destilada o desionizada.
- Para la reducción de los datos se recomienda la utilización de un equipo con capacidad de realizar un ajuste logístico de la curva a 4 parámetros.
- Control/es séricos de eritropoyetina, ej., Quantikine IVD Human Serum Control 1 y 2 y control 3 (disponibles en el catálogo de R&D con las referencias CEP01 y CEP03 respectivamente), o equivalente.

EQUIPOS

Los resultados del ensayo se cuantifican por espectofotometría a 450 nm utilizando un lector de microplacas. Para optimizar los resultados debería incluirse una lectura a una longitud de onda de referencia de 600 nm (pueden también utilizarse 540 nm, 570 nm y 650 nm), para corregir las variaciones ópticas en la microplaca de poliestireno. Pueden utilizarse aparatos sin filtros de referencia, pero esto puede disminuir la precisión del ensayo. Se recomienda utilizar un lector de microplacas con un rango de densidades ópticas de 0-3 D.O. y una precisión de + 0,005 D.O. Pueden utilizarse lectores de microplacas con un rango de densidad óptica inferior a 0-3 D.O., pero se reducirá el rango del ensayo.

LIMITACIONES

- Los resultados de este ensayo deberían tenerse en cuenta con la información disponible procedente de otras evaluaciones clínicas y de otros procedimientos diagnósticos.
- No se han analizado las interferencias de fármacos en este ensayo.
- Si las muestran presentan valores superiores al del estándar más elevado, diluir la muestra en Diluyente de la Muestra y repetir el ensayo.
- Cualquier variación en el técnico que manipula el ensayo, la técnica de pipeteo, la técnica de lavado, la temperatura o el tiempo de incubación, así como el tiempo transcurrido desde la fabricación del kit pueden originar variaciones en la reacción.

EXTRACCION Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Suero - Utilizar un separador de suero o un tubo para coagulación y permitir que las muestras coagulen a temperatura ambiente (20-25° C). Centrifugar a 760x g* durante 15 minutos a temperatura ambiente dentro de los 30 minutos siguientes a la extracción para evitar la hemolisis. Alicuotar y almacenar en tubos estériles a 2-8° C hasta 7 días o durante un tiempo indefinido a ≤ -10° C en un congelador sin ciclos de autodescongelación. **Evitar repetir los ciclos de congelación y descongelación.**

Plasma - Recoger el plasma utilizando EDTA como anticoagulante. Centrifugar a 760 x g* durante 15 minutos a temperatura ambiente dentro de los 30 minutos siguientes a la extracción. Alicuotar y almacenar en tubos estériles a 2-8° C hasta 7 días o durante un tiempo indefinido a ≤ -10° C en un congelador sin ciclos de autodescongelación. **Evitar repetir los ciclos de congelación y descongelación.** Se recomienda que cada laboratorio estandarice su ensayo utilizando muestras de suero o de plasma EDTA.

Muestras con un elevado contenido en lípidos, extremadamente hemolizadas o contaminadas podrían contribuir a resultados inexactos y no deberían analizarse utilizando esta técnica. La interferencia de fármacos no ha sido investigada en este ensayo.

Consultar recomendaciones de la CLSI: *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens* (Documento CLSI H18; el revisión corriente).

* g = $(1{,}118 \times 10^{-5})$ (radius i cm) $(\text{o./min.})^2$

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20-25° C) antes de su utilización.

Buffer de Lavado (1X) - Si se formasen cristales en el concentrado, permitir alcanzar una temperatura ambiente y mezclar con cuidado hasta que los cristales se hayan disuelto completamente. Diluir 100 mL de Buffer de Lavado Concentrado en agua destilada o desionizada para preparar 2500 mL de Buffer de Lavado (1X).

Solución de Substrato - Los Reactivos de Color A y B deberán mezclarse en volúmenes iguales dentro de los 15 minutos previos a su utilización. Se requieren 200 µL por pocillo de esta mezcla. Eliminar la Solución de Substrato preparada que no se haya utilizado.

PREPARATION DE LA SOLUCIÓN DE SUBSTRATO SEGÚN EL TAMAÑO DE ENSAYO		
No Total de Pocillos por Ensayo	Volumen de Reactivo de Color A	Volumen de Reactivo de Color B
96	11 mL	11 mL
48	6 mL	6 mL
32	4 mL	4 mL

PROTOCOL DE ENSAYO

Permitir que todos los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (20-25° C) antes de su utilización. Se recomienda que cada uno de las muestras, los estándares y los controles se ensayen por duplicado. Se proporciona protocolo de mesa y protocolo con agitador. Deberá utilizarse el mismo protocolo a lo largo de todo el ensayo.

1. Preparar todos los reactivos como se indica en la sección anterior.
2. Extraer del soporte las filas de la microplaca que no vayan a utilizarse, y devolverlas a la bolsa de aluminio con el desecante y cerrarla.
3. Pipetear 100 µL del Diluyente del Ensayo Epo a cada pocillo.
4. Añadir 100 µL del estándar, control o muestra a cada pocillo. Agitar la placa suavemente durante 1 minuto aproximadamente, para mezclar bien los componentes. Cubrir la placa con el papel adhesivo que se proporciona. En la página 32 se muestra un esquema de la placa que contiene un diagrama de los estándares, los controles y las muestras.
   Para protocolo de mesa: Incubar durante 2 horas ± 5 minutos a temperatura ambiente.
   Para protocolo con agitador: Incubar durante 1 hora ± 5 minutos a temperatura ambiente en un agitador de microplacas orbital horizontal (0,12" órbita) a 500 ± 50 rpm.
5. Aspirar completamente o decantar el contenido de cada pocillo. Con la placa invertida, escurrir sobre papel secante. **No lavar.**
6. Añadir 200 µL del Conjugado Epo a cada pocillo. Cubrir la placa con un nuevo papel adhesivo.
   Para el protocolo de mesa: Incubar durante 2 horas ± 5 minutos a temperatura ambiente.
   Para el protocolo con agitador: Incubar durante 1 hora ± 5 minutos a temperatura ambiente en un agitador de microplacas orbital horizontal.
7. Aspirar cada uno de los pocillos y lavar, repitiendo el proceso 3 veces hasta un total de 4 lavados. Lavar rellenando cada pocillo con Buffer de Lavado (400 µL) utilizando un frasco lavador, dispensador manual, o lavador automático. Para la realización de un procedimiento correcto es esencial eliminar completamente el líquido residual en cada paso. Tras el último lavado, eliminar cualquier resto de buffer de lavado por aspiración o decantación. Invertir la placa y escurrirla nuevamente sobre papel secante.
8. Añadir 200 µL de Solución de Substrato a cada pocillo (Advertencia: La solución de substrato debe utilizarse dentro de los 15 minutos siguientes a su preparación). Incubar durante 20-25 minutos a temperatura ambiente sobre la mesa de trabajo.
9. Añadir 100 µL de Solución de Parada a cada pocillo. Si no se observa un cambio de color uniforme, agitar la placa suavemente para asegurar una mezcla completa.
10. Determinar la densidad óptica (D.O) de cada pocillo antes de los siguientes 15 minutos, utilizando un lector de microplacas con un filtro para 450 nm. Si se dispone de corrección de la longitud de onda, leer a 600 nm. Si no se dispone de corrección de la longitud de onda, restar las lecturas de 600 nm a las lecturas de 450 nm. Con esta sustracción se corregirán las variaciones ópticas en la placa. Las lecturas realizadas a 450 nm directamente sin realizar corrección, pueden ser más elevadas y menos precisas.

ESQUEMA DE LA PLACA

Se muestra a continuación un diagrama de los estándares, controles y de las muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	0	Cntrl 2	Cntrl 2	S7	S7	S15	S15	S23	S23	S31	S31
B	2.5	2.5	Cntrl 3	Cntrl 3	S8	S8	S16	S16	S24	S24	S32	S32
C	5	5	S1	S1	S9	S9	S17	S17	S25	S25	S33	S33
D	20	20	S2	S2	S10	S10	S18	S18	S26	S26	S34	S34
E	50	50	S3	S3	S11	S11	S19	S19	S27	S27	S35	S35
F	100	100	S4	S4	S12	S12	S20	S20	S28	S28	S36	S36
G	200	200	S5	S5	S13	S13	S21	S21	S29	S29	S37	S37
H	Cntrl 1	Cntrl 1	S6	S6	S14	S14	S22	S22	S30	S30	S38	S38

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Leer la absorbancia de cada pocillo en un lector de microplacas utilizando 450 nm como longitud de onda primaria y a 600 nm como longitud de onda de referencia (también puede aceptarse 540, 570 o 650 nm). Calcular el promedio de las lecturas de los duplicados para cada uno de los estándares, controles y muestras y restar a cada uno de esos valores, el promedio de la densidad óptica del estándar de concentración 0 mIU/mL.

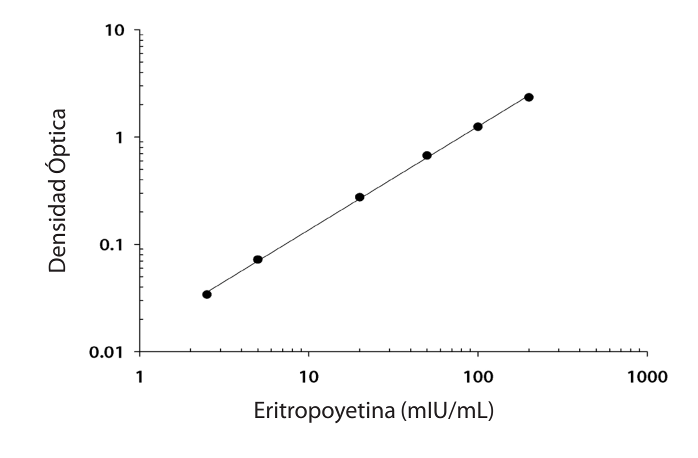
Crear una curva éstandar por reducción de los datos utilizando un software capaz de generar un ajuste logístico de curva cuatro parámetros (4PL). Como alternativa, construir una curva éstandar representando los valores de la media de la absorbancia para cada estándar en el eje x frente su concentración en el eje y dibujar la curva que mejor se ajuste a lo largo de los puntos de la gráfica. Los datos pueden linealizarse representando el log de las concentraciones de Epo frente al log de las D.O; y puede calcularse la línea que mejor se ajuste por un análisis de regresión. Este procedimiento generará un ajuste de los datos adecuado pero menos preciso.

Crear un informe con los valores de cada muestra que se haya leído dentro del rango del ensayo (2,5-200 mIU/mL). Para los valores de las muestras desconocidas que se encuentren por encima del rango anterior, ver la sección de Dilución de Muestras con Concentraciones de Epo Elevadas. Los valores inferiores a este rango, deben informarse como no detectables o < a 2,5 mIU/mL.

DATOS TIPICOS

Estas curvas éstandar se proporcionan únicamente como una demostración. Se debería realizar una curva éstandar para cada grupo de muestras que se ensayen.

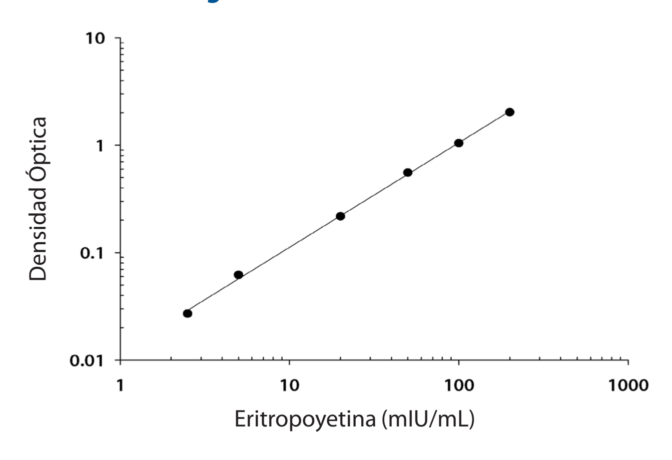
Protocolo de Mesa



Protocolo de Mesa

(mIU/mL)	D.O.	Promedio	Corregido
0	0,072		
0	0,074	0,073	—
2,5	0,106		
2,5	0,108	0,107	0,034
5	0,144		
5	0,146	0,145	0,072
20	0,342		
20	0,353	0,348	0,275
50	0,743		
50	0,746	0,744	0,671
100	1,298		
100	1,340	1,319	1,246
200	2,366		
200	2,463	2,414	2,341

Protocolo con Agitador



Protocolo con Agitador

(mIU/mL)	D.O.	Promedio	Corregido
0	0,045		
0	0,047	0,046	—
2,5	0,070		
2,5	0,076	0,073	0,027
5	0,107		
5	0,108	0,108	0,062
20	0,263		
20	0,263	0,263	0,217
50	0,597		
50	0,608	0,602	0,556
100	1,081		
100	1,098	1,090	1,044
200	2,008		
200	2,136	2,072	2,026

DILUCION DE LAS MUESTRAS CON CONCENTRACION DE EPO ELEVADA

Si una muestra de suero o plasma se encuentra por encima de 200 mIU/mL, diluirla con Diluyente de la Muestra.

Por ejemplo:

- Para las muestras con concentraciones de Epo entre 200 mIU/mL y 2000 mIU/mL, diluir la misma 10 veces. Diluir 25 μL de la muestra con 225 μL del Diluyente de la Muestra.
- Para las muestras con concentraciones de Epo por encima de 2000 mIU/mL; realizar una dilución más elevada de la misma para que caiga dentro del rango de la curva estándar (ej. dilución 1/20; 1/40, etc.)

Advertencia: Utilizar tubos de polipropileno o de polietileno de elevada densidad (HDPE) para las diluciones de la muestra. **NO UTILIZAR TUBOS DE CRISTAL.** La utilización de tubos de cristal puede originar resultados erróneos debido a la adsorción de Epo al cristal.

Para calcular la concentración de Epo en la muestra de suero o de plasma; multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio en el cual se realizen estos ensayos, debería establecer un programa de control de calidad para verificar el funcionamiento del inmunoensayo Quantikine IVD Epo. Como una parte de este programa, deberían incluirse en cada ensayo controles con concentraciones de Epo conocidas (disponibles en R&D Systems). R&D Systems recomienda que para verificar el funcionamiento correcto del método de este ensayo deberían incluirse al menos dos controles. Un control en la mitad superior del rango normal y un control en la región intermedia de la curva del ensayo son una buena elección para realizar la evaluación diaria del ensayo. También puede utilizarse un control situado en la mitad superior de la curva para evaluar el funcionamiento en valores elevados. Si los valores obtenidos no se encuentran dentro de los rangos establecidos, los resultados del ensayo no deberían considerarse como válidos.

Los resultados de cada ensayo individual se consideran como válidos si los valores obtenidos en los controles se encuentran dentro de los valores publicados de un control disponible comercialmente o del rango establecido para un control del laboratorio. El coeficiente de correlación para la curva estándar establecida debería ser ≥ 0,95.

GUIA DE PROBLEMAS

En general, un fallo en el ensayo se debe a un error técnico, a la instrumentacion o a un fallo de los reactivos. Cuando un ensayo no funciona, comprobar las fechas de caducidad de los reactivos individuales y asegurarse de que todos los reactivos se han almacenado como se indica en la etiqueta del producto. Para más información, consultar la sección de Indicios de Inestabilidad o Deterioro. Si existen dudas sobre la calidad del ensayo, o si ocurre algún problema durante su realización, se podría localizar el problema consultando la siguiente tabla:

PROBLEMA	POSIBLE ORIGEN	COMPROBACION O ACTUATION
% C.V. elevados (Variabilidad de los duplicados elevada comparada con los requerimientos de precisión para el laboratorio)	Lavado de los pocillos incompleto	Asegurarse que el proceso de lavado se realiza adecuadamente
	Aspiración de los pocillos inadecuada	Los pocillos deberían estar secos tras la aspiración
	Mezcla incompleta del Reactivo de Color A y el Reactivo de Color B	Comprobar que la Solución de Substrato se ha mezclado adecuadamente
	Agitar el contenido de los pocillos salpicando el adhesivo que cubre la placa	Calibrar el agitador a 500 ± 50 rpm
	Adición de volúmenes diferentes a los pocillos	Asegurarse que las pipetas están calibradas y están trabajando correctamente
Delta bajo reducido (D.O. < 0,015) **o fondo elevado**	Lavado de los pocillos incompleto	Asegurarse que el proceso de lavado se está realizando adecuadamente
	Aspiración de los pocillos inadecuada	Los pocillos deberían estar secos tras la aspiración
	Adición de volúmenes diferentes a los pocillos	Asegurarse que las pipetas están calibradas y están trabajando correctamente
	La mezcla del Reactivo de Color A y el Reactivo de Color B se ha realizado con mucha antelación	La Solución de Substrato debería utilizarse dentro de los siguientes 15 minutos tras su preparación
Mala correlación de la curva estándar (r < 0,95)	Error en el pipeteo	Examinar la edición de los datos de acuerdo con los procedimientos de cada laboratorio en particular
Desarrollo de color inadecuado	Aspiración de los pocillos inadecuada	Los pocillos deberían estar secos tras la aspiración
	Adición de volúmenes diferentes a los pocillos	Asegurarse que las pipetas están calibradas y están trabajando correctamente
	Tiempos o temperaturas de incubación incorrectos	Ajustarse a los periodos de incubación y temperaturas recomendadas
	Fallo en el conjugado o reactivo de color	Mezclar volúmenes iguales (el. 100 µl de cada) de Reactivo de Color A, Reactivo de Color B y Conjugado Epo. Debería desarrollarse color inmediatamente
El contenido de los pocillos salpica el adhesivo que la cubre	El agitador de placas está trabajando demasiado rápido	Calibrar el agitador a 500 ± 50 rpm

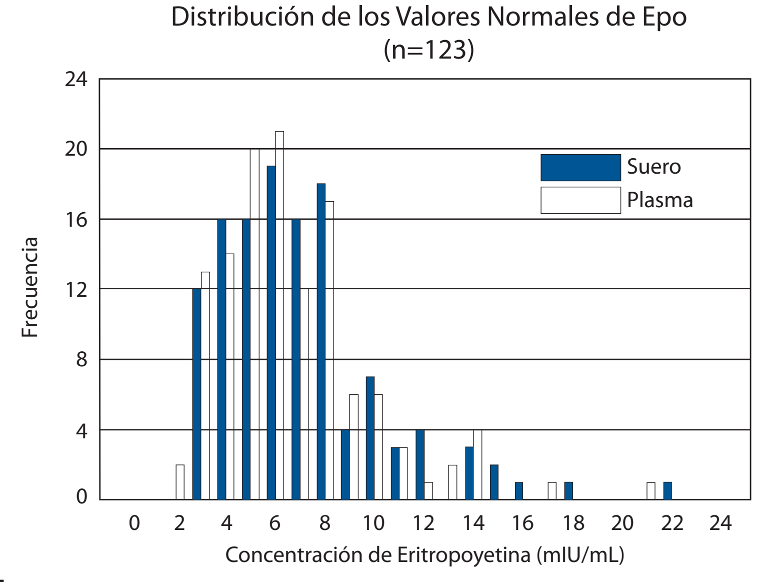
VALORES ESPERADOS

Rango de normalidad

Los rangos de normalidad para suero y plasma EDTA han sido determinados utilizando el kit de ELISA Quantikine IVD Epo. Las concentraciones de eritropoyetina se obtuvieron de una población de 123 individuos normales procedentes de Minneápolis/St. Paul, en Minnesota. Utilizando el método no paramétrico para el análisis de los valores de referencia, los cuales están indicados en la publicación del NCCLS *"How to Define, Determine and Utilize Reference Intervals in the Clinical Laboratory"* (NCCLS Document C28-P; Vol. 12, No. 2), se establecieron los siguientes rangos de referencia para la Epo en suero y plasma (percentiles 2,5-97,5). Sin embargo cada laboratorio debería establecer sus propios rangos de normalidad.

Rangos de Normalidad de Epo

Suero	EDTA plasma
3,3-16,6 mIU/mL	3,1-14,9 mIU/mL



Rangos en situaciones de enfermedad

Los pacientes que sufren una policitemia rubra vera pueden tener concentraciones de Epo dentro de los rangos normales, mientras que los que sufren de policitemia secundaria pueden tener concentraciones de Epo en suero elevadas. Los pacientes de policitemia rubra vera que han sido sometidos a flebotomia pueden presentar concentraciones séricas de Epo elevadas.

Los pacientes que sufren de anemias presentarán concentraciones de Epo en el suero mucho más elevadas de lo normal, mientras que aquellos que padecen anemias asociadas con un fallo renal crónico podrían tener concentraciones séricas de Epo dentro del rango de normalidad de este ensayo. Los pacientes con anemia que reciben transfusiones pueden exhibir concentraciones séricas de Epo mucho más bajas de lo esperado.

Concentraciones extremadamente elevadas de Epo en suero pueden ser observadas en situaciones patológicas incluyendo neoplasias renales, tumores benignos, enfermedad poliquística renal, quistes renales e hidronefrosis.

Los resultados de este ensayo deberían valorarse en conjunto con el resto de informaciones disponibles procedentes de las evaluaciones clínicas y de otros métodos diagnósticos.